

**IDENTIFIKASI POLA HAPLOTIPE DNA MITOKONDRIA
UDANG JARI (*Metapenaeus elegans*) SEGARA ANAKAN
KABUPATEN CILACAP JAWA TENGAH MENGGUNAKAN
ENZIM RESTRIKSI *Hind*III**

SKRIPSI

Oleh:

FITRA ARYA DWI NUGROHO

NIM. 10620024



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2015

**IDENTIFIKASI POLA HAPLOTIPE DNA MITOKONDRIA UDANG JARI
(*Metapenaeus elegans*) SEGARA ANAKAN KABUPATEN CILACAP
JAWA TENGAH MENGGUNAKAN ENZIM RESTRIKSI *Hind*III**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
FITRA ARYA DWI NUGROHO
NIM. 10620024**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015**

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fitra Arya Dwi Nugroho
NIM : 10620024
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Penelitian : Identifikasi Pola Haplotipe DNA Mitokondria Udang Jari
(*Metapenaeus elegans*) Segara Anakan Kabupaten Cilacap
Jawa Tengah Menggunakan Enzim Restriksi *Hind*III

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 12 Januari 2015

Yang Membuat Pernyataan,



Fitra Arya Dwi Nugroho
NIM. 10620024

**IDENTIFIKASI POLA HAPLOTIPE DNA MITOKONDRIA UDANG JARI
(*Metapenaeus elegans*) SEGARA ANAKAN KABUPATEN CILACAP
JAWA TENGAH MENGGUNAKAN ENZIM RESTRIKSI *Hind*III**

SKRIPSI

Oleh:

FITRA ARYA DWI NUGROHO

NIM. 10620024

Telah Disetujui Oleh:

Dosen Pembimbing I



Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002

Dosen Pembimbing II



Umaiyatus Syarifah, M.A
NIP. 19820926 200901 2 005

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Erika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**IDENTIFIKASI POLA HAPLOTIPE DNA MITOKONDRIA UDANG JARI
(*Metapenaeus elegans*) SEGARA ANAKAN KABUPATEN CILACAP JAWA
TENGAH MENGGUNAKAN ENZIM RESTRIKSI *HindIII***

SKRIPSI

Oleh:

FITRA ARYA DWI NUGROHO

NIM. 10620024

Telah Dipertahankan di Depan Dewan penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Sains (S.Si)

Tanggal, 12 Januari 2015

Susunan Dewan Penguji:

Tanda Tangan

- | | | |
|------------------|---|---|
| 1. Penguji Utama | : <u>Dr. drh. Hj. Bayvinatul M., M.Si</u> (.....) |  |
| | NIP. 19710919 200003 2 001 | |
| 2. Ketua Penguji | : <u>Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si</u> (.....) |  |
| | NIP. 19671113 199402 2 001 | |
| 3. Sekretaris | : <u>Kholifah Holil, M.Si</u> (.....) |  |
| | NIP. 19751106 200912 2 002 | |
| 4. Anggota | : <u>Umaivatus Svarifah, M.A</u> (.....) |  |
| | NIP. 19820925 200901 2 005 | |

Mengetahui dan Mengesahkan

Ketua Jurusan Biologi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

MOTTO

وما اللذة الا بعد التعب

No Pain, No Gain.

PERSEMBAHAN

Bismillah

Aku persembahkan karya tulis ini untuk:

Mamakku tersayang “Shobiyatun”, Bapakku tercinta “Nuruddin”.

Kesabaran, kasih sayang, bimbingan, serta arahan kalian menerangi gelapnya duniaku, menunjukkan arahku, menuntunku ke sinar terang jalan-

Nya. Pesona kalian masih jelas kurasakan hingga kini, menemani hingga dewasa. Dera air mata dan pengorbanan kalian, di kala terik, di kala hujan,

di pagi hingga senja, tak kan pernah tergantikan,

Terima kasih Mamak, Terima kasih Bapak.

Saudara-saudaraku: Kakang Slamet Mustofa, Mba Anip, Dek Jijah, Dek

Lupi, Dek Sopi, Arfan. Canda tawa kalian adalah api semangatku.

Ibu Ifa dan Ibu Maya, kritik, saran, motivasi, bimbingan, serta arahan yang begitu membangun telah mengantarkanku ke dalam mimpi besar.

Partner kerjaku, Pak gur Amrizaldi, Partner penelitianku Mba Ayu

Ludyasari. Bantuan kalian adalah saham yang terlalu besar dalam penelitian ini, tak mungkin bisa terbayarkan, semoga mendapat balasan

dari Allah SWT.

Teman-teman laboratorium genetika, Mba Cita, Asip, Solika, Ruk-ruk,

Mba Adel, Luluk Maftuha.

Sahabat distrik atas Asrama Riau: Irpan, Rahel, Pak gur, Oon, Hamim.

Sahabat angkatan 2010, Andri Setiawan.

KATA PENGANTAR



Alhamdulillahirabbil'aalamiin

Rasa syukur sedalam-dalamnya diucapkan kepada Tuhan Semesta Alam, Allah SWT, hanya karena rahmat-Nya laporan penelitian skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya.

Penghargaan dan ucapan terima kasih yang tulus penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen wali. Berkat bimbingan dan arahan beliau, penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dengan baik.
5. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen penguji proposal dan skripsi, atas segala saran dan masukan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

6. Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen pembimbing biologi. Berkat segala kritik dan saran beliau, penulis mampu menyelesaikan panjangnya perjalanan skripsi ini.
7. Umaiatus Syarifah, M.A, selaku dosen pembimbing agama. Kesabaran dalam membimbing dan mengarahkan menjadi inspirasi penulis untuk mencontoh beliau.
8. Seluruh dosen yang telah memberikan segenap ilmu yang bermanfaat.
9. Seluruh staff dan laboran jurusan biologi (Mas Mahrus Ismail, Mas Basyar, Mas Shaleh, Mba Lil, Mas Zulfan, dan Mba Retno).
10. Seluruh pihak yang telah memberikan dukungan hingga terselesaikannya skripsi ini.

Tiada balasan yang dapat penulis berikan selain doa semoga Allah SWT menerima amal baik mereka semua dan memberikan imbalan yang lebih baik atas segala jerih payahnya, serta merengkuh dalam ridho-Nya. Semoga laporan penelitian ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan semua pihak pada umumnya.

Malang, 7 Januari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1. 1 Latar Belakang	1
1. 2 Rumusan Masalah	9
1. 3 Tujuan.....	9
1.4 Manfaat.....	9
1.5 Batasan Masalah.....	10

BAB II. KAJIAN PUSTAKA	11
2.1 Udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i>)	11
2.1.1 Morfologi dan Anatomi Udang Jari.....	13
2.1.2 Daur Hidup Udang Jari.....	18
2.2 DNA (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>)	20
2.2.1 DNA Mitokondria (mtDNA)	23
2. 3 Teknik Analisis Molekuler <i>Restriction Fragmen Length</i>	
<i>Polymorphism</i> (RFLP)	23
2.3.1 Enzim Restriksi Endonuklease	28
2.3.2 Enzim Restriksi <i>HindIII</i>	30
2.4 Pola Pemotongan dan Keragaman Genetik	31
 BAB III. METODE PENELITIAN	 34
3. 1 Rancangan Penelitian	34
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	34
3.3 Variabel Penelitian	34
3.4 Alat dan Bahan	35
3. 2. 1 Alat	35
3. 2. 2 Bahan.....	35
3. 5 Prosedur Penelitian.....	35
3. 5. 1 Isolasi DNA.....	36
3. 5. 2 Pengukuran Kuantitas DNA dengan Spektrofotometer ..	37

3. 5. 3 Amplifikasi DNA Mitokondria	38
3. 5. 4 Elektroforesis	39
3. 5. 5 Analisis Data	40
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4. 1 Kuantitas dan Kualitas DNA Udang jari Hasil Isolasi	41
4.2 DNA Genom Udang Jari	45
4.3 Amplifikasi Daerah Kontrol DNA Mitokondria Udang Jari	
Menggunakan Primer COIL-COIH dengan Mesin PCR.....	48
4.4 Pola Haplotipe DNA Mitokondria Udang Jari Menggunakan	
Enzim restriksi <i>Hind</i> III.....	52
BAB V. PENUTUP.....	57
5. 1 Kesimpulan.....	57
5. 2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN-LAMPIRAN	6

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Fungsi-fungsi anggota tubuh udang	14
Tabel 2.2 Urutan pengenalan beberapa enzim restriksi	29
Tabel 4.1 Nilai kuantitas DNA genom udang Jari hasil isolasi menggunakan spektrofotometer	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi udang Jari	13
Gambar 2.2 Organ reproduksi udang Jari	17
Gambar 2.3 Daur hidup udang Jari	19
Gambar 2.4 Struktur DNA inti.....	21
Gambar 2.5 Kompleks protein dan DNA yang memberntuk kromatin dan kromosom	22
Gambar 2.6 Pola pemotongan enzim <i>HindIII</i>	30
Gambar 4.1 Visualisasi DNA genom udang Jari hasil isolasi	46
Gambar 4.2 Visualisasi hasil amplifikasi menggunakan primer COIL dan COIH dengan mesin PCR	49
Gambar 4.3 Visualisasi hasil pemotongan daerah kontrol mtDNA menggunakan enzim restriksi <i>HindIII</i>	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data identifikasi pola haplotipe DNA mitokondria udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i>) Segara Anakan Kabupaten Cilacap Jawa Tengah menggunakan enzim restriksi <i>HindIII</i>	65
Lampiran 2. Skema kerja isolasi DNA udang Jari	69
Lampiran 3. Skema kerja pengukuran kuantitas dan kualitas DNA udang Jari hasil isolasi.....	70
Lampiran 4. Skema kerja amplifikasi DNA mitokondria udang Jari dengan primer COIL dan COIH menggunakan mesin PCR.....	71
Lampiran 5. Skema kerja pemotongan DNA mitokondria udang Jari menggunakan enzim restriksi <i>HindIII</i>	72
Lampiran 6. Dokumentasi penelitian	73

ABSTRAK

Arya, Fitra. 2015. Identifikasi Pola Haplotipe DNA Mitokondria Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) Segara Anakan Kabupaten Cilacap Jawa Tengah Menggunakan Enzim Restriksi *Hind*III. Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, M.Si. Pembimbing Agama: Umayyatus Syarifah, M.A.

Kata Kunci : Pola Haplotipe, DNA Mitokondria, Udang Jari (*Metapenaeus elegans*), Enzim restriksi *Hind*III.

Kerusakan ekosistem di Segara Anakan, Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah serta eksploitasi yang berlebihan dan terus menerus menimbulkan permasalahan pada kelestarian sumberdaya udang Jari. Informasi genetik udang Jari sangat diperlukan dalam rangka menjaga kelestarian plasma nutfah udang Jari di alam. Salah satu cara untuk memperoleh informasi genetik udang Jari adalah dengan mengidentifikasi pola haplotipe DNA mitokondria menggunakan enzim restriksi *Hind*III. DNA mitokondria hanya diturunkan dari induk betina dan memiliki variasi yang tinggi. Enzim restriksi *Hind*III telah digunakan dalam penelitian Klinbunga *dkk* (1998) dan memotong banyak fragmen pada udang penaeidae. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dan ukuran fragmen serta pola haplotipe DNA mitokondria yang dipotong oleh enzim restriksi *Hind*III.

Jenis penelitian ini adalah deskriptif. Sampel yang digunakan adalah 7 individu udang Jari dari hasil tangkapan di Segara Anakan, Cilacap, Jawa tengah. Isolasi DNA dilakukan pada bagian kaki jalan dan ekor dengan menggunakan metode modifikasi dari Tamayo (2006), amplifikasi menggunakan primer COIL dan COIH. Parameter penelitian ini adalah konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$), kemurnian ($A_{260/280}$) dan ukuran (bp) DNA genom hasil isolasi, ukuran (bp) DNA mitokondria hasil amplifikasi, ukuran (bp) dan pola haplotipe DNA mitokondria hasil pemotongan menggunakan enzim restriksi *Hind*III.

Hasil penelitian ini menunjukkan konsentrasi DNA genom hasil isolasi antara 1,85 $\mu\text{g/ml}$ – 8,23 $\mu\text{g/ml}$, kemurnian antara 1,30 – 1,95 dan ukuran DNA genom hasil isolasi lebih dari 10.000 bp. DNA mitokondria yang teramplifikasi menggunakan primer COIL dan COIH berukuran 950 bp. Pemotongan dengan enzim restriksi *Hind*III pada hasil amplifikasi diperoleh 4 pita berukuran 114 bp, 200 bp, 250 bp dan 386 bp yang membentuk pola haplotipe monomorfik.

ملخص البحث

أريا , فطرى. ٢٠١٥. تحديد أنماط هابلوتيبى DNA المتكوندري الروبيان جاري (*Metapenaeus elegans*) لاغونا سيغار انكن مديرية وكلاكاب جاوى الوسطى باستخدام إنزيم *HindIII*. مشرف البيولوجيا: خليفة خليل الماجستير ومشرف الدين: أمية الشرفة الماجستير.

الكلمات الرئيسية: أنماط هابلوتيبى, DNA المتكوندري, الروبيان جاري (*Metapenaeus elegans*), إنزيم *HindIII*

الأضرار التي لحقت بالنظام الإيكولوجي في لاغونا سيغار انكن مديرية وكلاكاب جاوى الوسطى والاستغلال المفرط والمستمر يثير مشكلة في الاستدامة الروبيان جاري (*Metapenaeus elegans*). المعلومات الوراثية الروبيان جاري لا غنى عنها من أجل إبقاء حفظ الاستدامة الأصول الوراثية في الطبيعة. طريقة واحدة للحصول على المعلومات الوراثية كان بتحديد نمط هبلوتيبى DNA المتكوندري باستخدام إنزيم *HindIII*. المتكوندري فقط تنتقل من الاناث الا صل وقد تباين عالية. إنزيم *HindIII* المستخدمة في الدراسة (Klinbunga *dkk*, 1998) وخفض الكثير من الشظايا على الروبيان (*Penaeidae*). ولذلك، يهدف هذا البحث إلى معرفة عدد وحجم من شظايا وأنماط هابلوتيبى DNA المتكوندري يقص بإنزيم *HindIII*.

هذا البحث هو دراسة وصفية. وكانت العينة المستخدمة في هذه الدراسة ٧ الروبيان الفردية المأخوذة من مصيد لاغونا سيغار انكن كابوباتين وكلاكاب جاوى الوسطى. يتم استخراج عينة البحث بطريقة Tamayo (2006) وتضخيمها من قبل PCR. وأما الدراسة المعلمة تركيز الحمض النووي الإجمالي, DNA genom (µg/ml) و تقد ير DNA genom (bp), DNA, و تقد ير DNA (bp) المتكوندري نتيجة , و عدد القطع DNA المتكوندري (bp) و نوع النمط هبلوتيبى التي اقتطاع بإنزيم *HindIII*.

تشير نتائج هذا البحث إلى تركيز الحمض النووي الجينوم نتائج العزلة بين ١,٨٥ - ٨,٢٣ و النقاء بين ١,٣ - ١,٩٥ و حجم نتائج الحمض النووي لعزل أكثر من ١٠.٠٠٠ ب.ف. نتائج التضخيم الحمض النووي قطع تنتج فرقة واحدة تقع في ٩٥٠ سنة مضت. mtDNA و COIH مع الاشعال لفائف و PCR باستخدام و إنتاج نوعا زاحدا توليد في ١١٤, ٢٠٠, ٢٥٠, و ٣٨٦ في الجينوم و *HindIII* الانزيم (monomorfik).

ABSTRACT

Arya, Fitra. 2015. Identification of Haplotype Pattern of Mitochondrial DNA from Fine Shrimp (*Metapenaeus elegans*) in Segara Anakan District of Cilacap Central Java Using Restriction Enzyme of *HindIII*. Biology Supervisor: Kholifah Holil, M.Si. Religious Supervisor: Umaiyyatus Syarifah, M.A

Keyword : Haplotype pattern, mitochondrial DNA, Fine Shrimp (*Metapenaeus elegans*), Restriction Enzyme *HindIII*.

The damage of the ecosystem in Segara Anakan, District of Cilacap, Central Java and the abundant-continous exploitation have provoked problem with the sustainability of fine shrimp resources. The genetic information of fine shrimp is very needed in order to preserve the germplasm in nature. One of some ways to obtain the genetic information of fine shrimp is by identifying haplotype pattern of mitochondrial DNA using a restriction enzyme *HindIII*. Mitochondrial DNA is only maternal inheritance and has a high variation. Restriction enzyme *HindIII* used in Klinbunga research (1998) and digested many fragments in penaeidae shrimp. This study aims to find out the number and size of the fragment which is digested by restriction enzyme *HindIII*.

This kind of the study is descriptive. Seven samples are taken from shrimp catches in Segara Anakan, district of Cilacap, Central Java. The DNA isolation conducted to the walking leg and tail using Tamayo (2006) method with modification, amplification using COIL and COIH primers. The parameters of this study are concentration ($\mu\text{g/ml}$), purity ($A_{260/280}$) and size (bp) of genomic DNA resulted from isolation, size (bp) of mitochondrial DNA resulted from amplification, size (bp) and haplotype pattern of mitochondrial DNA resulted from digestion using restriction enzyme *HindIII*.

Result of the study show that the concentration of genomic DNA is 1,85-8,23 $\mu\text{g/ml}$, the purity is 1,30-1,95 and the size is more than 10.000 bp. Amplification of mitochondrial DNA resulted in 950 bp and the digestion using *HindIII* resulted 4 fragments consist of 114 bp, 200 bp, 250 bp, 386 bp which formed monomorphic pattern.